BD Helicobacter Agar, Modified

APPLICATION

La **BD Helicobacter Agar, Modified** (gélose d'Helicobacter modifiée) est un milieu sélectif servant à l'isolement de la bactérie *Helicobacter pylori* à partir d'échantillons gastriques.

PRINCIPES ET EXPLICATION DE LA METHODE

Méthode microbiologique.
Isolée pour la première fois en 1982 par Marshall et Warren, la bactérie *Helicobacter pylori* a été identifiée comme étant un agent infectieux majeur, responsable de gastrites chroniques, d'ulcères duodénaux et gastroduodénaux et de certains types de cancers de l'estomac.[1,2] Même si le diagnostic s'appuie souvent sur des tests sérologiques visant à détecter la présence d'anticorps contre ce microorganisme ou sur des tests rapides permettant de mettre en évidence une activité anormale de l'uréase, la mise en culture est indispensable pour détecter une infection précoce en l'absence de réponse d'anticorps. La culture permet également de déterminer le profil de sensibilité aux antimicrobiens des souches individuelles. Différents milieux ont été utilisés pour l'isolement de ce microorganisme qui, s'il n'est pas très exigeant, est très sensible à l'oxygène car c'est un microaérophile, et nécessite une période d'incubation de 3 à 5 jours.[3]
La **BD Helicobacter Agar, Modified** est préparée sur une base de Columbia Agar. La combinaison antimicrobienne correspond à la formulation décrite par Dent et McNulty, qui contient des mélanges de vancomycine, d'amphotéricine B, de triméthoprime et de cefsulodine pour inhiber les flores contaminantes sans perte de récupération des bactéries *H. pylori*.[4] Sur la proposition de l'équipe de Stevenson, la concentration de cefsulodine a été augmentée afin de renforcer l'effet inhibiteur des flores contaminantes.[5] Grâce à l'ajout de sang de cheval lysé, l'apport en nutriments est augmenté.

REACTIFS

BD Helicobacter Agar, Modified
Formule* par litre d'eau purifiée

Digestion pancréatique de caséine	12,0 g	Gélose	13,5 g
Digestion peptique de tissu animal	5,0	Vancomycine	0,01
Extrait de levure	3,0	Amphotéricine B	0,005
Extrait de bœuf	3,0	Triméthoprime	0,02
Fécule de maïs	1,0	Cefsulodine	0,01
Chlorure de sodium	5,0	Sang de cheval lysé	7 %

pH 7,3 ± 0,2
*Ajustée et/ou complémentée en fonction des critères de performances imposés.

PRECAUTIONS

IVD . A usage professionnel uniquement.
Ne pas utiliser les boîtes si elles présentent des signes de contamination microbienne, décoloration ou dessiccation, ou d'autres signes de détérioration.
Consulter le document « **MODE D'EMPLOI GENERAL** » pour connaître les procédures de manipulation aseptique, les risques biologiques, ainsi que les méthodes d'élimination des produits utilisés.

STOCKAGE ET DUREE DE CONSERVATION

Dès réception, conserver les boîtes de Pétri dans l'obscurité entre 2 et 8 °C dans leur emballage d'origine, jusqu'au moment de leur utilisation. Ne pas les congeler ni les surchauffer. Les boîtes peuvent être ensemencées jusqu'à leur date de péremption (voir étiquette sur l'emballage) et incubées pendant le délai d'incubation recommandé.
Des boîtes provenant d'une pile ouverte de 10 boîtes sont utilisables pour une semaine lorsqu'elles sont conservées entre +2 et +8 °C dans un endroit propre.

CONTROLE DE QUALITE PAR L'UTILISATEUR

Ensemencer les échantillons représentatifs avec les souches ci-dessous (pour plus d'informations, voir le document « **MODE D'EMPLOI GENERAL** »). Incuber à une température comprise entre 35 et 37 °C en atmosphère microaérobie, p. ex. dans un récipient **BD GasPak** avec une atmosphère obtenue via le système **BD CampyPak** (avec catalyseur) ou le système **BD CampyPak Plus**, pendant 3 à 5 jours.

Souches	Croissance
Helicobacter pylori ATCC 43504	Croissance bonne à importante ; colonies de taille minuscule à moyenne, transparentes
Candida albicans ATCC 10231	Inhibition partielle à complète
Escherichia coli ATCC 25922	Inhibition partielle à complète
Proteus mirabilis ATCC 43071	Inhibition partielle à complète, essaimage inhibé
Staphylococcus aureus ATCC 29213	Inhibition complète
Non ensemencée	Colonies de couleur bordeaux, légèrement transparente

METHODE

Matériaux fournis

BD Helicobacter Agar, Modified (boîtes de Pétri **Stacker** de 90 mm). Produit soumis à contrôle microbiologique.

Matériaux non fournis

Milieux de culture auxiliaires, réactifs et matériel de laboratoire requis.

Types, prélèvement et transport des échantillons

Prélever sur le patient plusieurs échantillons frais de biopsie gastrique, dont au moins en provenance de l'antre pylorique et un du corps de l'estomac, et les placer dans un milieu de transport adapté. Le suc gastrique ne convient pas. Si l'échantillon peut être transporté et traité sans délai, l'utilisation d'une solution saline physiologique est possible. Si un certain délai est prévisible, il faut impérativement utiliser un milieu de transport tel que le milieu de Stuart ou le **BD Port-A-Cul** maintenu à une température comprise entre 4 et 8 °C et traiter les échantillons sous 24 h. Ce microorganisme est très sensible au dessèchement et à l'exposition à l'oxygène.[6] Des recherches ont prouvé que l'ajout de glycérol dans le milieu de transport utilisé accroît sa viabilité, à condition que le milieu soit réfrigéré (à +4 °C par exemple) ou congelé.[7]

Mode opératoire du test

La surface de la gélose doit avoir un aspect lisse et humide, mais sans excès. Ne pas utiliser les boîtes de Pétri présentant des signes de dessèchement, et notamment de contraction du milieu. Lors de la manipulation des échantillons et des cultures, éviter toute exposition prolongée à l'air car ce microorganisme est très sensible à l'oxygène.[6]
Broyer ou hacher les échantillons obtenus lors de la biopsie dans une petite quantité de solution saline physiologique stérile avant de les placer dans le milieu. L'homogénat doit immédiatement être placé à la surface du milieu, recueilli à l'aide de l'anse à ensemencer, puis strié sur la surface via la méthode d'isolement par striation. Un milieu non sélectif tel que la **BD Columbia Agar with 5% Horse Blood** ou la **BD Chocolate Agar (GC Agar with IsoVitaleX)** doit être ensemencé avec la **BD Helicobacter Agar, Modified** pour que la récupération des pathogènes présents soit complète.

Incuber les boîtes de Pétri ensemencées pendant 3 à 5 jours à 35 ± 2 °C en atmosphère microaérobie, p. ex. dans un récipient **BD GasPak** avec une atmosphère obtenue via le système **BD CampyPak** (avec un catalyseur) ou le système **BD CampyPak Plus**.

Résultats
Après l'incubation, les boîtes de Pétri doivent présenter des colonies isolées dans les zones où l'inoculum a été correctement dilué. Les colonies d'*Helicobacter pylori* ont une taille petite à moyenne et un aspect transparent.
La réalisation d'une coloration de Gram sur les colonies correspondantes révèle la présence de bâtonnets Gram négatifs légèrement courbes. Une réaction positive rapide aux tests d'uréase, d'oxidase et de catalase effectués directement sur la croissance issue de la boîte de Pétri d'isolement (à condition que cette croissance soit suffisante) révèle la présence d'*H. pylori*. L'identification définitive doit s'appuyer sur des tests biochimiques appropriés.[6] Eviter tout délai pendant la manipulation de la culture car la majorité des souches d'*Heliobacter pylori* ne résistent pas à une exposition à l'air d'une durée supérieure à 30 à 45 min.[6] Repiquer immédiatement sur des milieux non sélectifs appropriés (voir **Mode opératoire du test**) et incuber comme décrit ci-dessus.

CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCES ET LIMITES DE LA PROCEDURE
La **BD Helicobacter Agar, Modified** est un milieu servant à l'isolement de la bactérie *Helicobacter pylori* à partir d'échantillons gastriques humains. [5,6]
Des bactéries autres que l'*Helicobacter pylori* peuvent se développer dans ce milieu. Il peut s'agir notamment d'*Helicobacter* spp. autres que *H. pylori* ou de contaminants issus des flores normales.
La croissance issue de ce milieu doit faire l'objet d'une différenciation supplémentaire, au moyen de tests biochimiques, morphologiques ou moléculaires. Ne pas appliquer d'échantillons fécaux à la **BD Helicobacter Agar, Modified**, car ce milieu n'est pas assez sélectif pour éliminer les flores intestinales.

Ce milieu n'a pas subi de tests visant à déterminer la croissance de *Helicobacter* spp. autres que *H. pylori*.

REFERENCES

1. Warren, J.R., and B.J. Marshall. 1983. Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis. Lancet i: 1273-1275.
2. National Institutes of Health. 1994. NIH Consensus Conference. *Helicobacter pylori* in peptic ulcer disease. NIH Consensus Development Panel on *Helicobacter pylori* in peptic ulcer disease. JAMA 272: 65-69.
3. Goodwin, C.S., and J.A. Armstrong. 1990. Microbiological aspects of *Helicobacter pylori* (*Campylobacter pylori*). Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 9: 1-13.
4. Dent, J.C., and C.A.M. McNulty. 1988. Evaluation of a new selective medium for *Campylobacter pylori*. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 7: 555-568.
5. Stevenson, T.H., L.M. Lucia, and G.R. Acuff. 2000. Development of a selective medium for isolation of *Helicobacter pylori* from cattle and beef samples. Appl. Environ. Microbiol. 66: 723-727.
6. Jerris, R.C. 1995. *Helicobacter. In:* Murray, P. R., E. J. Baron, M. A. Pfaller, F. C. Tenover, and R. H. Yolken (ed.). Manual of clinical microbiology, 6th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
7. Han, S.W., et al. 1995. Transport and storage of *Helicobacter pylori* from gastric mucosal biopsies and clinical isolates. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 14: 349-352.

CONDITIONNEMENT
BD Helicobacter Agar, Modified

N° réf. 254430	Milieux en boîtes de Pétri prêts à l'emploi, 20 unités

INFORMATIONS COMPLEMENTAIRES

Pour plus d'informations, contacter le représentant local de BD.

BD Diagnostic Systems
Tullastrasse 8 – 12
D-69126 Heidelberg/Germany
Phone: +49-62 21-30 50 Fax: +49-62 21-30 52 16
Reception_Germany@europe.bd.com

BD Diagnostic Systems Europe
Becton Dickinson France SA
11 rue Aristide Bergès
38800 Le Pont de Claix/France
Tel: +33-476 68 3636 Fax: +33-476 68 3292 http://www.bd.com

BD, BD logo, Stacker, CampyPak, and GasPak are trademarks of Becton, Dickinson and Company
ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection
© 2003 Becton, Dickinson and Company